

На правах рукописи

Рабаданова Асият Курбанмагомедовна

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ
РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ У ПАЦИЕНТОК СО
СНИЖЕННЫМ ОВАРИАЛЬНЫМ РЕЗЕРВОМ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Шалина Раиса Ивановна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор,

член-корреспондент РАН

Краснопольская Ксения Владиславовна

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии», отделение репродуктологии, руководитель

доктор медицинских наук, профессор

Серебенникова Клара Георгиевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Центральная клиническая больница Российской академии наук», научный руководитель по акушерству и гинекологии

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2019года в 14:00 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.072.15 на базе ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1 и на сайте: <http://rsmu.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2019г.

Ученый секретарь Диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Хашукоева Асият Зульчифовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Особенностью современной социально-экономической ситуации в мире является тот факт, что женщины откладывают деторождение на поздний репродуктивный возраст, отдавая предпочтение получению образования, карьере, решению материально-бытовых проблем. С возрастом уменьшается количество и качество яйцеклеток (Fleming R., et al 2015; Ramalho de Carvalho B et al., 2012).

Частота встречаемости пациенток с бесплодием и сниженным овариальным резервом обусловлена прежде всего увеличением числа женщин старшего возраста, обращающихся в центры вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), а так же тех пациенток, кто ранее подвергался цистэктомиям (Серебrenникова К.Г. 2014; Ubaldi F et al., 2014; Amanvermez R., et al 2016;).

Важным условием эффективности экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) является овариальный резерв. Репродуктивная система женщины жестко детерминирована во времени и с 27 летнего возраста начинается процесс потери пула примордиальных фолликулов, пик которой наступает в возрасте 35–37 лет. (Краснопольская К.В. и соавт., 2013; Назаренко Т.А. и соавт., 2015; Scheffer et al., 2017).

Методы ВРТ не всегда являются эффективными, так как частота наступления беременности при сниженном овариальном резерве не превышает 10-12% на попытку (Greene A et al., 2014; Alviggi C. и соавт. 2016). У первородящих женщин данной группы отмечается высокий риск возникновения репродуктивных потерь (Ванян Р.Э. и др. 2014; Зазулина Я.А., 2016).

Степень разработанности научной темы

Трудности медикаментозного лечения пациенток со сниженным овариальным резервом привели к поиску новых технологий и возможностей улучшения эффективности программ ЭКО. Низкая эффективность лечебных мероприятий объясняется отсутствием возможности влияния на репродуктивный потенциал. Плохой ответ яичников на стимуляцию суперовуляции с большой вероятностью прогнозируется по уровню антимюллерова гормона (АМГ), который является количественным маркером

фолликулярного резерва яичников (Hawkins Bressler L et al., 2018). Его продукция не зависит от уровня фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и не меняется в течение менструального цикла (Piiodromiti S., 2015). Но, можно ли считать АМГ косвенным показателем качества ооцитов и прогностическим критерием развития осложнений в I триместре беременности, остается неясным.

Эффективность ЭКО в большей мере определяется получением ооцитов хорошего качества и является одной из важнейших задач в ходе выполнения процедур ВРТ. В настоящее время имеется предположение, что одним из принципиальных повреждающих факторов фолликулярной жидкости является оксидативный стресс, который может негативно влиять на формирование эмбриона хорошего качества (F. Lampiao et al., 2012). В связи с чем эффективность протокола ЭКО может быть снижена, а однозначного мнения о роли антиоксидантов в формировании эмбрионов хорошего качества нет.

К важным факторам эффективности ЭКО относится состояние эндометрия, и способность его к имплантации. Учитывая, что при сниженном овариальном резерве отмечается тенденция к снижению внутриматочной перфузии (А. Kim и соавт. 2014; Серебренникова К.Г. и соавт.; 2014 Bu Z et al., 2016; Н. Коо и соавт. 2017) вопрос о степени выраженности изменений маточного кровотока у таких пациенток окончательно не изучен и остается актуальным.

Учитывая, что пациентки с низким овариальным резервом имеют низкую эффективность программ ЭКО, изучение факторов, влияющих на успех лечебных протоколов является актуальной сферой исследования.

Цель исследования

Разработать критерии эффективности программ ЭКО у пациенток с исходно сниженным овариальным резервом.

Задачи исследования

1. Провести анализ и выявить особенности течения первого триместра беременности после ЭКО и частоту репродуктивных потерь у пациенток со сниженным овариальным резервом.
2. Установить факторы риска осложнений беременности, способствующих неблагоприятным исходам при сниженном овариальном резерве.

3. Оценить степень выраженности антиоксидантной активности фолликулярной жидкости у пациенток с различным овариальным резервом.

4. Соотнести качество эмбрионов с параметрами антиоксидантной активности фолликулярной жидкости у пациенток с различным овариальным резервом и эффективностью протоколов ЭКО.

5. Определить значимость параметров кровотока матки при 3D УЗИ в день переноса эмбриона у пациенток с различным овариальным резервом для эффективности программ ЭКО.

Научная новизна

Впервые на основании изучения антиоксидантной активности (АОА) фолликулярной жидкости и параметров внутриматочного кровотока выявлены критерии эффективности циклов ЭКО при сниженном овариальном резерве.

Установлено влияние АОА фолликулярной жидкости на качество эмбриона: определено, что как окислительный, так и антиоксидантный стресс в 88,9-100% соотносится с эмбрионами плохого качества.

Определены параметры объемного кровотока в матке и эндометрии с захватом субэндометриальной зоны с помощью 3D УЗИ, помогающие объективно оценивать возможность имплантации эмбриона в эндометрий в день переноса.

Выявлено, что сочетание низкого АМГ и позднего репродуктивного возраста у беременных пациенток после ЭКО является предиктором репродуктивных потерь в первом триместре.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что на основании полученных данных определены критерии эффективности циклов ЭКО у пациенток со сниженным овариальным резервом.

Практическая значимость состоит в выборе тактики влечения пациенток со сниженным овариальным резервом в циклах ВРТ, позволяющий повысить эффективность протоколов ЭКО и избежать заведомо не эффективных переносов эмбрионов и перинатальных потерь.

Методология и методы исследования

Методология исследования включала оценку особенностей течения первого триместра беременности после экстракорпорального оплодотворения у пациенток с различным овариальным резервом, а так же факторы, влияющие на эффективность вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток со сниженным овариальным резервом. Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор больных и статистическая обработка результатов). Работа выполнена в дизайне открытого двухэтапного (ретроспективный и проспективный) исследования с использованием клинических, инструментальных, лабораторных и статистических методов исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациенток со сниженным овариальным резервом частота осложнений и потерь беременности в 1,8 раз выше чем при нормальной функции яичников.
2. Уровень антиоксидантной активности фолликулярной жидкости позволяет предположить о качестве эмбрионов на 5 сутки развития. Как увеличение, так и снижение уровня антиоксидантной активности коррелирует с плохим качеством эмбриона.
3. Объем эндометрия, параметры кровотока в матке и субэндометриальной зоне по данным 3Д УЗИ являются эффективным предиктором успешности метода ЭКО независимо от овариального резерва.

Степень достоверности результатов исследования

Статистическая обработка материалов проводилась с использованием пакетов прикладных программ «Statistica 7», «MedCalc 11». Различия между группами анализировались с помощью t-критерия Стьюдента, U-критерия Манна-Уитни. В расчетах применялся ROC-анализ. Для получения численного значения клинической значимости теста, а также для сравнения двух тестов, использовался показатель AUC (Area Under Curve).

Апробация работы

Основные результаты работы доложены и обсуждены на: XI международной Пироговской научной медицинской конференции студентов и

молодых ученых (Москва, март 2017); 17th World Congress on Human Reproduction (Рим, март 2017); Gynecological Endocrinology - 18th World Congress (Флоренция, март 2018).

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, кафедры акушерства и гинекологии факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, врачей ГБУЗ ЦПСиР ДЗМ (протокол №14 от 27 июня 2018).

Личное участие автора

Личное участие автора состоит в организации дизайна исследования в соответствии с его целью и задачами, получении исходных клинических данных, проведении сбора клинического материала. Автором выполнен анализ анамнестических данных, клинических наблюдений и результатов обследования, а так же проведен забор фолликулярной жидкости и серия экспериментов с обработкой полученных данных. Сделаны 3Д УЗИ исследования всех пациенток проспективного этапа в день переноса эмбриона, выполнена обработка и статистический анализ полученных данных.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4, 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Реализация и внедрение полученных результатов в практику

Результаты исследования внедрены в лечебную практику гинекологических, родовых и консультативных отделений клинических баз кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России: ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции» ДЗ г. Москвы (главный врач – к.м.н. О.А. Латышкевич), Перинатального Медицинского Центра (главный врач – Т.О. Нормантович), а так же используются в педагогическом процессе на лекциях и практических занятиях со студентами и ординаторами на кафедре акушерства и гинекологии

педиатрического факультета ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» и кафедре акушерства и гинекологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова».

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 5 – в изданиях, рекомендованных ВАК Министерством образования и науки РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 130 страницах печатного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 187 источников: 77 – отечественных и 110 – зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 29 рисунками и 12 таблицами.

Материалы и методы исследования

Работа была выполнена в течение 2015-2018 гг. на кафедре акушерства и гинекологии педиатрического факультета РНИМУ (зав.кафедрой – академик РАН, д.м.н., профессор М.А.Курцер), расположенной на базе Центра планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения г. Москва (главный врач – к.м.н. О.А.Латышкевич) и Перинатального медицинского центра (главный врач – Т.О. Нормантович).

Исследование проводилось в два этапа.

Первый этап (ретроспективный) исследования был посвящен изучению особенностей течения первого триместра беременности после ЭКО у пациенток с различным овариальным резервом.

Второй этап (проспективный) состоял в определении факторов, влияющих на эффективность ЭКО у пациенток со сниженным овариальным резервом.

В общей сложности на первом и втором этапах проанализировано 227 протоколов ЭКО и ПЭ: из них у 151 – ретроспективно на основании историй болезни; у 76 – в нативных программах ЭКО и ПЭ. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

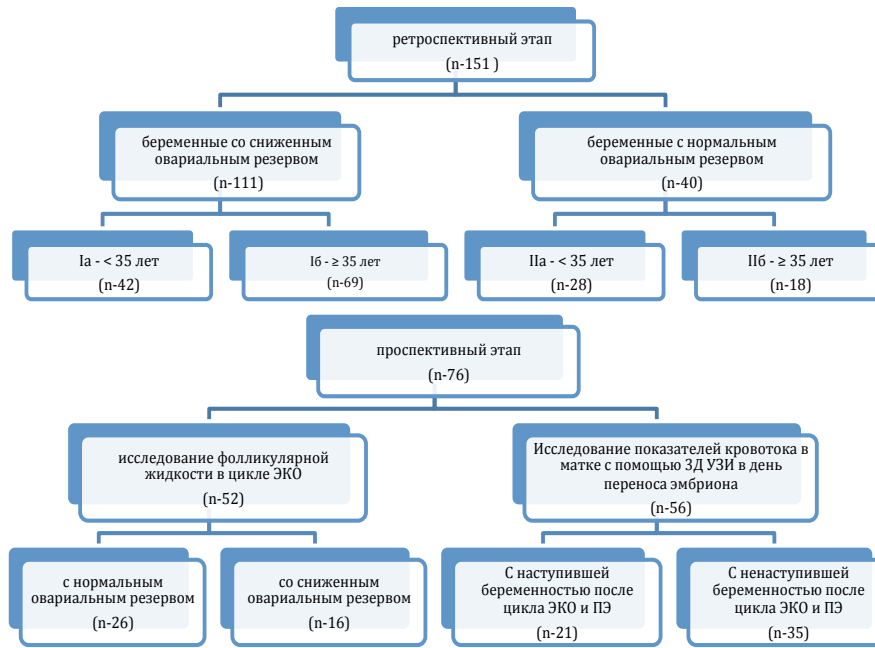


Рисунок 1 – Дизайн исследования

На первом этапе распределение на группы осуществлялось в зависимости от овариального резерва. Первую группу составили пациентки со сниженным овариальным резервом (111 пациенток), вторую – с хорошим овариальным резервом (40 пациенток).

Далее в процессе работы мы использовали принцип современной классификации POSEIDON для определения вероятности возникновения осложнения и потерь беременности в зависимости от двух критериев: возраста и овариального резерва. Для этого анализа мы разделили обследованных пациенток на 4 подгруппы: Ia составили пациентки в возрасте менее 35 лет и сниженным овариальным резервом, IIa группу - пациентки этой же возрастной группы, но с хорошим овариальным резервом. В Iб группу вошли женщины старше 35 лет со сниженным овариальным резервом, во IIб – старше 35 лет с хорошим овариальным резервом.

На втором этапе исследования была изучена фолликулярная жидкость у 52 пациенток в протоколе ЭКО для определения антиоксидантной активности, определялось соотношение показателей АОА с качеством эмбрионов и эффективностью протокола ЭКО.

У 56 из 76 пациенток в день переноса эмбриона производилось исследование кровотоков в матке с помощью 3D УЗИ с функцией энергетической

доплерографии. Разделение на группы осуществлялось в зависимости от эффективности протокола ЭКО. Так в первой группе было 23 пациентки, у которых беременность после ЭКО наступила, во вторую группу вошли 35 пациенток, беременность у которых после ЭКО не наступила.

Критериями включения были пациентки со сниженным овариальным резервом, хорошим овариальным резервом и трубно-перитонеальным фактором бесплодия в возрасте от 30 до 40 лет.

Критерием исключения были пациентки с: иммунологическим фактором бесплодия, мужским бесплодием, эндометриозом, ановуляторными менструальными циклами. возрастом менее 30 и более 40 лет, миомой матки различных размеров и локализаций, наличием функциональных и истинных образований яичников, гипоплазия эндометрия в анамнезе.

Лабораторные методы исследования. Изучение овариального резерва проводили с помощью определения уровня ФСГ, ЛГ, эстрадиола (Е2) в сыворотке крови с использованием метода ИФА, а также основного маркера овариального резерва – антимюллерова гормона (АМГ), методом иммуноферментного анализа (АМГ Gen II ELISA производства Beckman Coulter, Inc. USA). При АМГ менее 1,1нг/мл, ФСГ более 8,0 МЕ/л, количестве антральный фолликулов менее 3-4 на 2-3 день менструального цикла, пациентка определялась в группу со сниженным овариальным резервом. Всем пациенткам проспективного этапа исследования проводили короткий протокол ЭКО с использованием антагонистов ГнРг.

Использованное оборудование. Для оценки антиоксидантной активности фолликулярной жидкости использовали методику, основанную на подавлении хемилюминесценции (ХЛ). В качестве источника свободных радикалов в системе использовали диазосоединение — 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид — АБАП («Fluka», США). В качестве хемилюминесцентного зонда использовали люминол (5-амино-1,2,3,4-тетрагидро-1,4-фталазиндион, гидразид 3-аминофталевой кислоты, «Sigma-Aldrich»). Хемилюминесцентный анализ плазмы проводили на однокюветном хемилюминометре SmartLum 100 («ДИСофт», Россия).

Проводилось 2D и 3D ультразвуковое исследование на аппарате Voluson 730 Expert (GE Healthcare, Zipf, Austria) с использованием объемного 5-9 МГц трансвагинального датчика. УЗИ исследование включало в себя следующие этапы:

- в начале менструального цикла для решения вопроса о возможности начала стимуляции суперовуляции с помощью 2Д УЗИ,
- динамическая оценка роста фолликулов в стимулируемом цикле для определения количества растущих фолликулов с использованием 2D УЗИ.
- в день переноса эмбриона для измерения параметров кровотока в матке, субэндометриальной зоне и эндометрии с использованием 3D УЗИ(настройки препарата: Gn -9,0, Frq low, Qual norm, WMF low1, PRF 0.9kHz.
- при положительном анализе крови на в-ХГЧ для определения локализации плодного яйца, установления факта маточной беременности и в последствии для диагностики таких осложнений как анэмбриония, неразвивающаяся беременность, наличие ретрохориальной гематомы – при 2D УЗИ.

В день переноса эмбриона при помощи программы VOCAL (Virtual Organ Computer-aided AnaLysis) определяли объем матки, эндометрия и эндометрия с субэндометриальной зоной (включая ткань на 5 мм кнаружи от контура эндометрия, далее именуемая как зона субэндометрия). Обводку контура осуществляли в ручном режиме (Manual), который включал следующие этапы:

- выбор изображения матки с использованием регулятора Zoom, позволяющего увеличить масштаб изображения;
- установка угла вращения - 12° при помощи Rotation Step, который должен быть не более 15° , поскольку при малой дискретности сосуды, расположенные рядом с маткой, могут попадать в объем реконструкции объекта ;
- выбор частоты среза - 1,5 мм, что является достаточным для получения достоверных результатов;
- построение объемного изображения.

Далее программа VOCAL TM, включающая в себя функцию Color Angio, рассчитывала следующие показатели: индекс васкуляризации (VI), отражающий процентное отношение сосудов в выбранном объеме ткани; индекс кровотока

(FI), определяющий объем клеток крови, перемещающихся в сосудах во время исследования; васкуляризационно-потоковый индекс (VFI), сочетающий в себе информацию о количестве сосудов и величине кровотока путем перемножения VI и FI.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Течение первого триместра беременности при сниженном овариальном резерве

Оценивая особенности течения беременности в первом триместре при различной функции яичников выявлено, что общая частота осложнений в этот период в 1,9 раза выше при сниженном овариальном резерве чем при хорошем ($p < 0,05$) [таблица 1].

У пациенток со сниженным овариальным резервом диагностирован в 1,8 раза чаще чем у пациенток с нормальной функцией яичников (таблица 1).

Таблица 1 – Структура осложнений беременности у пациенток с различным овариальным резервом

| Осложнения | Сниженный овариальный резерв | Нормальный овариальный резерв | <i>p</i> |
|-----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------|
| | I группа n-111 | II группа n-40 | |
| Начавшийся выкидыш | 65 (58,6%) | 13 (32,5%) | $p=0,008$ |
| Потеря беременности: | 20 (18,0%) | 4 (10,0%) | $p=0,216$ |
| анэмбриония | 2 (10,0%) | - | |
| неполный самопроизвольный выкидыш | 8 (40,0%) | - | |
| неразвивающаяся беременность | 10 (50,0%) | 4 (100%) | |
| Общее количество | 88 (79,3%) | 17 (42,5%) | $p < 0,01$ |

При сниженном овариальном резерве потеря беременности отмечена у 20 пациенток (18,0%). Из них: в структуре потерь беременности на долю анэмбрионии приходилось - 2 (10,0%), неполный самопроизвольный выкидыш – 8 (40,0%), неразвивающаяся беременность – 10 (50,0%). При трубно-перитонеальном факторе бесплодия потеря беременности была только у 4 пациенток по типу неразвивающейся, что не выходит за рамки общепопуляционных данных ($p > 0,05$).

При цитогенетическом исследовании абортусов хромосомная патология по типу трисомии была обнаружена у 2 пациенток (11,0%) только при сниженном овариальном резерве. Отличий от общепопуляционных данных не обнаружено.

Сравнивая частоту осложнений беременности по возрастным группам отмечено, что наиболее неблагоприятный прогноз течения первого триместра отмечен у пациенток в возрасте старше 35 лет при сниженном овариальном резерве (таблица 2). В этой группе в 88,4% наблюдений первый триместр беременности протекал с осложнениями.

Таблица 2 – Овариальный резерв, возраст и осложнения беременности в I триместре после ЭКО и ПЭ

| Осложнения | возраст | Сниженный овариальный резерв I группа | | Нормальный овариальный резерв II группа | |
|-------------------------------------|---------|--|---------------|--|---------------|
| | | до 35 лет | более 35 лет | до 35 лет | более 35 лет |
| | | n-42(а) | n-69(б) | n-22(а) | n-18(б) |
| Начавшийся выкидыш ^{1,3,4} | | 20 (47,6%) | 45 (65,2%) | 4 (18,2%) | 9 (50,0%) |
| Потеря беременности ³ | | 4 (9,5%) | 16 (23,2%) | 1 (4,5%) | 3 (16,7%) |
| Трубная беременность | | 3 (7,1%) | | | |
| Всего осложнений ^{1,2,3,4} | | 27 (64,3%) | 61 (88,4%) | 5 (22,7%) | 12 (66,7%) |

Примечание:

¹ – различия между подгруппами Ia и IIa достоверны ($p < 0,05$)

² - различия между подгруппами Ib и IIb достоверны ($p < 0,05$)

³ - различия между подгруппами Ia и Ib достоверны ($p < 0,05$)

⁴ - различия между подгруппами IIa и IIb достоверны ($p < 0,05$)

Так при сравнении частоты начавшегося выкидыша у пациенток со сниженным и хорошим овариальным резервом в возрасте менее 35 лет выявлено, что при сниженном данное осложнение диагностировано в 2,6 раза чаще чем при нормальном ($p < 0,05$). Нами отмечено, что частота возникновения начавшегося выкидыша у пациенток в более старшем возрасте более 35 лет выше при сниженном овариальном резерве - начавшийся выкидыш диагностирован в 1,3 раза чаще чем у пациенток с хорошей функцией яичников ($p = 0,079$).

У пациенток старше 35 лет со сниженным овариальным резервом потери беременности были в 2,4 раза чаще чем у более молодых пациенток и в 1,4 раз выше чем у пациенток этого же возраста с трубно-перитонеальным фактором ($p=0.054$) [таблица 2].

При анализе отношения общего количества осложнений беременности к возрасту и уровню АМГ наблюдались достоверные отличия. Так, в возрасте моложе 35 лет, отмечается снижение общего количества осложнений при хорошем овариальном резерве в 3 раза ($p=0.011$) в сравнении с трубно-перитонеальным фактором бесплодия. В старшей возрастной группе разрыв между общим количеством осложнений был не столь значительный – в 1,5 раза, но различия все же достоверны ($p=0.003$).

Таким образом, при сниженном овариальном резерве в I триместре беременности общее количество осложнений в 1,9 раз выше, чем при хорошем овариальном резерве (79,3% и 42,5% соответственно); выше риск развития начавшегося выкидыша (58,6% и 32,5% соответственно), а так же неразвивающейся беременности (18,0% и 10,0% соответственно), особенно в старшей возрастной группе (таблица 2): общее количество осложнений 88,4% и 66,7% соответственно. В связи с чем, возраст и овариальный резерв могут выступать в роли прогностического критерия для оценки частоты возникновения осложнений в I триместре беременности. Особое внимание следует уделить пациенткам старше 35 лет со сниженным овариальным резервом. Осложнения в данной группе пациенток отмечены в 1,3 раза чаще, чем при хорошем овариальном резерве у пациенток той же возрастной группы.

Сравнивая частоту развития начавшегося выкидыша у пациенток с различным методом стимуляции суперовуляции в протоколах ЭКО установлено, что беременность без осложнений протекала при ЭКО в естественном цикле у 22 пациенток (70,9%), а в стимулированном протоколе ЭКО и ПЭ в 2 раза реже. Это связано с отсутствием отрицательного влиянием экзогенных гонадотропинов на развитие эндометрия и имплантацию эмбриона в естественных циклах. 16 из 20 пациенток (70,0%) проходили лечение бесплодия в стимулированном цикле. В связи с чем предпочтительным протоколом ЭКО

для пациенток со сниженным овариальным резервом возможно рекомендовать ЭКО в естественном цикле в связи с наиболее благоприятным прогнозом течения 1 триместра беременности у данных пациенток.

Антиоксидантная активность фолликулярной жидкости, качество эмбрионов и эффективность протоколов ЭКО

При использовании вспомогательных репродуктивных технологий качество ооцитов является одним из важнейших критериев успеха лечебного цикла. Существует целый ряд факторов, негативно влияющих на качество клетки - это поздний репродуктивный возраст, сниженный овариальный резерв, неблагоприятные факторы окружающей среды (Eichenlaub-Ritter U. 2012). Данные факторы впоследствии приводят к единственно эффективному методу лечения бесплодия при снижении овариального резерва – использование донорских ооцитов. Механизм формирования ооцитов плохого качества окончательно не установлен. Было проведено исследование особенностей влияния антиоксидантной активности фолликулярной жидкости на качество эмбриона при различном овариальном резерве.

Было проанализировано 52 образца фолликулярной жидкости, полученной при трансвагинальной пункции фолликулов у пациенток с нормальным (26 человек – I группа) и сниженным (26 человек – II группа) овариальным резервом. Во II группе так же были пациентки, у которых в фолликулярной жидкости в последствии не было обнаружено ооцитов. В двух группах было получено 76 эмбрионов на 5 сутки развития.

Сравнение значений общей АОА в двух группах по критерию Манна-Уитни показало, что различия между средними значениями статистической значимости не имели ($p=0,34$), но отмечалась тенденция к более низким показателям в группе со сниженным овариальным резервом (9,9; 7,3-12,9 мкМ) по сравнению с нормальным (11,2; 8,2-22,5 мкМ).

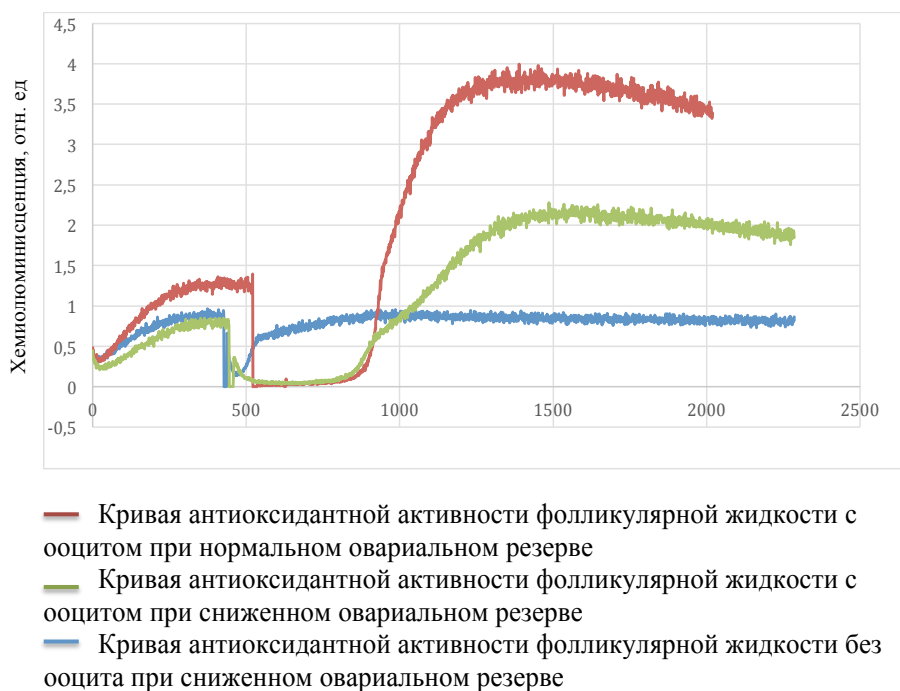


График 1 – Общая антиоксидантная активность фолликулярной жидкости у пациенток с различным овариальным резервом

При построении гистограммы, отражающей степень выраженности АОА жидкости при различном овариальном резерве (график 1) установлено, что значения общей АОА при нормальном овариальном резерве выше, чем при сниженном. Указанное может свидетельствовать о развитии окислительного стресса в фолликулах пациенток со сниженным овариальным резервом в большей мере чем при нормальном. В фолликулах без ооцитов значения АОА фолликулярной жидкости были самыми низкими.

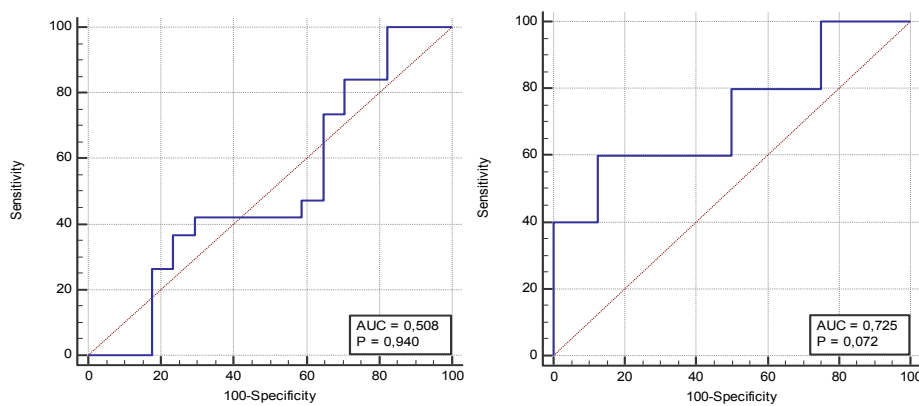
Для дальнейшего анализа все пациентки были объединены в одну выборку для сопоставления уровня антиоксидантной активности с качеством эмбриона. В ходе интерпретации результата из объединенной выборки было выделено три зоны антиоксидантной активности в зависимости от качества эмбриона:

1. Зона пониженной АОА (менее 15мкМ), которая сопоставима с формированием окислительного стресса. В этой зоне у 2/3 пациенток были получены эмбрионы плохого качества либо не получены совсем. Большая часть пациенток со сниженным овариальным резервом и эмбрионами плохого качества относилась к этой зоне.

2. Зона нормальной АОА (15-30 мкМ) характеризовалась наибольшим количеством эмбрионов хорошего качества (88,0%). Эти значения АОА явились наиболее оптимальными для формирования качественных эмбрионов.

3. Зона повышенной АОА (30 мкМ и более) определялась как антиоксидантный стресс. У всех пациенток этой группы были эмбрионы плохого качества. Все пациенты в этой зоне были с нормальным овариальным резервом.

Ниже предложены две ROC-кривые, где отражается соотношение уровня АОА и качества эмбриона при различном овариальном резерве.



а. АОА при нормальном овариальном резерве

б. АОА при сниженном овариальном резерве

График 2 – ROC-анализ антиоксидантной активности фолликулярной жидкости и качества эмбриона у пациенток с различным овариальным резервом

Сравнивая две кривые определено, что АОА при сниженном овариальном резерве оказывает наиболее значимое влияние на качество эмбриона (график 2б), чем при хорошем овариальном резерве (график 2а). Так площадь ROC-кривой при нормальном овариальном резерве равна 0,508, в то время как при сниженном - S больше и равна 0,725. Представленные данные указывают на большое влияние уровня антиоксидантной активности фолликулярной жидкости на формирование эмбриона хорошего качества при сниженном овариальном резерве (чувствительность (60,0%) и специфичность (85,7%) чем при хорошем резерве яичников (83,3%; 41,7% соответственно).

Таким образом, для получения ооцита хорошего качества, способного к оплодотворению и дальнейшему развитию до 5-х суток необходимо

оптимальное значение АОА в фолликулярной жидкости. Изменение данного параметра как в меньшую сторону (окислительный стресс), так и в большую (антиоксидантный стресс) отрицательно сказывается на росте ооцита, успешном оплодотворении и качестве эмбриона. Для этих процессов требуется оптимальный уровень продукции активных форм кислорода.

Параметры маточного кровотока, определяемые с помощью 3D УЗИ у пациенток с бесплодием и эффективность ЭКО

Большую роль в результативности программ ЭКО играет способность эндометрия к имплантации, которая зависит от рецептивности эндометрия и кровоснабжения матки. Во второй части проспективного исследования нами проведена оценка кровоснабжения не только матки и эндометрия, но и субэндометриальной зоны (эндометрий с захватом миометрия на 5 мм кнаруже от базального контура эндометрия) в день переноса эмбриона у пациенток с различным овариальным резервом. Использование 3D УЗИ с прикладной программой VOCAL позволило оценить низкоскоростные параметры кровотока, которые характерны для матки и эндометрия.

Проведен проспективный анализ 56 лечебных стимулированных циклов у пациенток при сниженном и нормальном овариальном резерве в стандартных программах ЭКО, в которых выполняли перенос на 5 сутки не более 2х эмбрионов на стадии бластоцист и оценивали эффективности протокола ЭКО. Первую группу составила 21 пациентка с наступившей беременностью после переноса эмбриона. Во вторую группу вошли 35 пациенток, у которых беременность не наступила.

На 5 день после трансвагинальной пункции перед переносом эмбриона было осуществлено 2D и 3D УЗИ.

Толщина эндометрия при 2D УЗИ в день переноса эмбриона у пациенток с наступившей впоследствии беременностью составляла $10,4 \pm 2,6$ мм при хорошем овариальном резерве и $10,6 \pm 1,9$ мм при сниженном. При отсутствии эффекта $8,4 \pm 0,9$ мм и $8,3 \pm 1,3$ мм соответственно. Данные различия были статистически значимыми ($p=0.05$, $p=0.03$).

Следовательно, значение толщины эндометрия в день переноса эмбриона является достаточно информативным параметром эффективности цикла ЭКО как при нормальном овариальном резерве, так и сниженном.

С помощью 3D УЗИ определяли объем матки, эндометрия, а так же эндометрия с захватом субэндометриальной зоны и параметры кровотока (индекс васкуляризации (VI), индекс кровотока (FI) и васкуляризионно-поточный индекс (VFI)) в исследуемых областях матки.

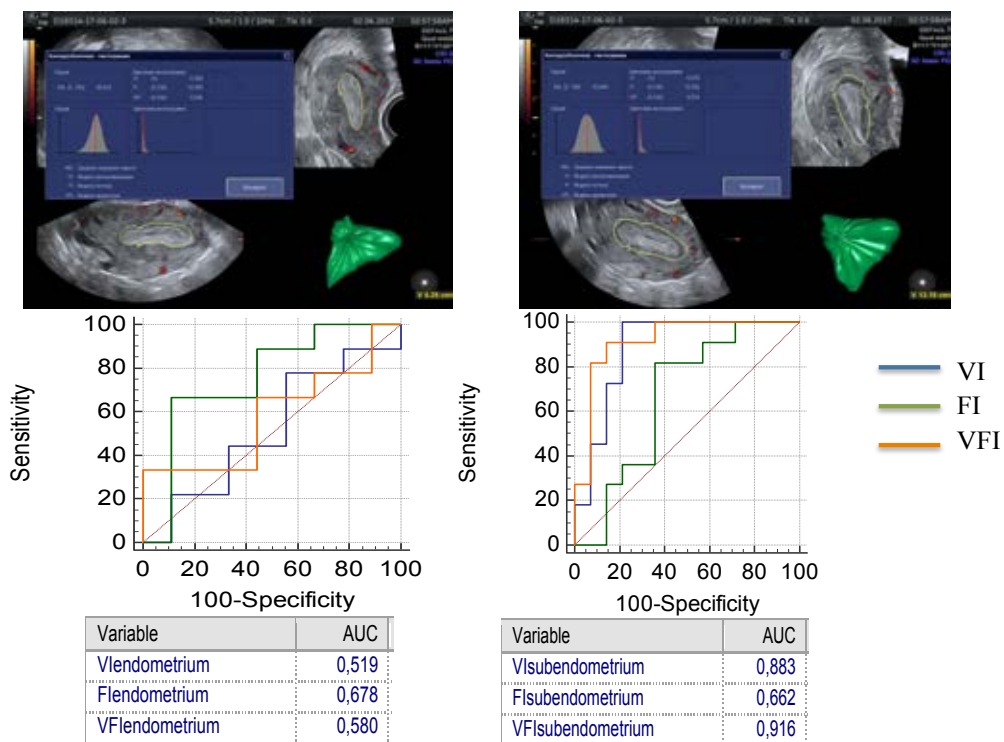
При 3D УЗИ объём матки в группе пациенток впоследствии с наступившей беременностью (I группа) составил $48,5 \pm 5,03 \text{ мм}^3$, во II группе с неэффективным циклом ЭКО этот показатель составил $48,9 \pm 4,87 \text{ мм}^3$. Достоверных отличий средних значений объема матки в зависимости от эффективности циклов ЭКО и состояния овариального резерва не отмечено ($p > 0,05$). Значения объемов эндометрия с захватом субэндометриальной зоны значимости в прогнозировании эффективности циклов ЭКО, как при сниженном ($9,8 \pm 0,8 \text{ мм}^3$) так и при нормальном ($10,0 \pm 1,1 \text{ мм}^3$) овариальном резерве не имели.

Как при сниженном так и нормальном овариальном резерве объем эндометрия без захвата субэндометрия у пациенток при эффективном цикле ЭКО был достоверно больше чем у пациенток с не наступившей беременностью ($p=0.003$) [таблица 3]. Так, при эффективном цикле ЭКО и хорошем овариальном резерве данный параметр был в 1,4, раза, а при сниженном в 1,7 раза выше чем при неэффективном ($p=0.004$, $p=0.008$) (таблица 3) (чувствительность 74,8, специфичность 60,6). В связи с полученными данными показатели объема эндометрия без захвата субэндометриальной зоны можно использовать в качестве предиктора эффективности цикла ЭКО.

Для прогнозирования эффективности циклов ЭКО производилась оценка низкоскоростных потоков крови, которые характерны для миометрия и эндометрия с применением энергетической доплерографии с прикладной программой VOCAL. Сравнивались показатели кровотока в миометрии, эндометрии и эндометрии с захватом субэндометриальной зоны.

Изучая кровоснабжение эндометрия, проведен ROC-анализ, в ходе которого выявлено, что при обводке эндометрия строго по базальному контуру

(кровоток определялся сугубо в эндометрии) соотношения исследуемых показателей кровотока (VI, FI, VFI) и эффективности протоколов ЭКО не получены (график 3а). В то время как при обводке контура эндометрия на 5 мм кнаружи от базального слоя захватом субэндометриальной зоны отмечена корреляция изменений изучаемых параметров кровотока и эффективности циклов ЭКО. Индекс васкуляризации (VI) и васкуляризационно-поточковый индекс (VFI) в субэндометриальной зоне были в 1,9 и 2,3 раза выше у пациенток с наступившей впоследствии беременностью после переноса эмбриона при нормальном овариальном резерве и в 2,9 и 3,9 раза при сниженном, чем при отсутствии эффекта (площадь под кривой для каждого измеренного параметра: для VI – 0,88; для FI – 0,66; для VFI – 0,91) [график 3б]. Однако, следует отметить, что FI в эндометрии с захватом субэндометриальной зоны не обладает достоверными различиями.



а. Обводка эндометрия по базальному контуру

б. Обводка эндометрия с захватом субэндометриальной зоны

График 3 – ROC-анализ эффективности протоколов ЭКО и параметров кровоснабжения матки в день переноса эмбриона при измерении различными методиками обводки контура

У пациенток при неэффективном цикле ЭКО и сниженном овариальном резерве VFI в эндометрии с захватом субэндометриальной зоны были в 2,5 раза

ниже чем при нормальном овариальном резерве ($p < 0.05$) [таблица 3], что указывает на наличие недостаточного кровоснабжения области субэндометрия у пациенток со сниженным овариальным резервом.

Оценивая индексы кровотока в матке (при обводке по контуру матки – график 3б), полученные в ходе построения гистограмм выявлена следующая закономерность: индекс васкуляризации (VI) и васкуляризационно-поточковый индекс (VFI) в матке при эффективном цикле ЭКО были в 1,5 и 1,9 раза выше чем при отсутствии эффекта при нормальном овариальном резерве и 2,4 и 3,1 раза при сниженном.

При сравнении изменений параметров кровотока в матке у пациенток в зависимости от овариального резерва установлено, что при неэффективном цикле ЭКО и сниженном овариальном резерве VI и VFI в матке были в 1,6 и 1,5 раза ниже чем при нормальном овариальном резерве ($p < 0.05$) [таблица 3], что позволяет предположить о снижении внутриматочной перфузии у пациенток со сниженным овариальным резервом.

Таблица 3 – Параметры с наибольшей прогностической значимостью эффективности ЭКО независимо от овариального резерва

| УЗИ параметры | группы | Эффективный протокол ЭКО I группа | | Не эффективный протокол ЭКО II группа | |
|--|--------------------|--------------------------------------|------------|--|-----------|
| | | нормальный | сниженный | нормальный | сниженный |
| Объем эндометрия ^{1,3,4} | овариальный резерв | 2,53±0,19 | 1,79±0,38 | 1,38±0,31 | 0,82±0,25 |
| Васкуляризационный индекс (VI) матки ^{1,2,3} | | 11,41±2,19 | 10,56±2,57 | 7,45±0,97 | 4,47±2,30 |
| Васкуляризационно-поточковый индекс (VFI) эндометрия с захватом субэндометриальной зоны ^{1,2,3} | | 0,92±0,64 | 0,39±0,16 | 0,5±0,15 | 0,10±0,08 |

Примечание:

¹ - достоверные отличия показателей пациенток с хорошим овариальным резервом в зависимости от эффективности программ ЭКО

² - достоверные отличия показателей пациенток со сниженным овариальным резервом в зависимости от эффективности программ ЭКО

³ - достоверные отличия показателей у пациенток с различным овариальным резервом и неэффективной программой ЭКО

⁴ - достоверные отличия показателей у пациенток с различным овариальным резервом и эффективной программой ЭКО

При эффективном протоколе ЭКО, изучая параметры кровотока (VI, FI, VFI) в матке, эндометрии и субэндометриальной зоне при различном овариальном резерве отличий в выявлено не было.

Следовательно, в ходе нашего исследования установлено, что при эффективном ЭКО независимо от состояния овариального резерва определяются более высокие показатели кровотока в матке и субэндометриальной зоне, чем при неэффективном протоколе. Самые низкие параметры кровотоков были выявлены у пациенток с низким овариальным резервом и неэффективной программой ЭКО, что мы связываем с нарушением роста сосудов функционального слоя эндометрия из-за недостаточного влияния эстрогенов у пациенток со сниженным овариальным резервом.

При анализе полученных данных 2D и 3D УЗИ нами выделены основные 3 параметра, имеющие достоверную корреляцию с эффективностью циклов ЭКО независимо от овариального резерва: объем эндометрия, индекс VI матки, а также VFI эндометрия с захватом субэндометриальной зоны (таблица 3).

Прогностическая значимость данных 3х показателей представлена с помощью ROC – кривой (график 4). Чувствительность 74,8% и специфичность 60,6% для объема эндометрия; 86,4% и 69,4% для VI матки, 90,4% и 79,4% для VFI субэндометриальной зоны соответственно.

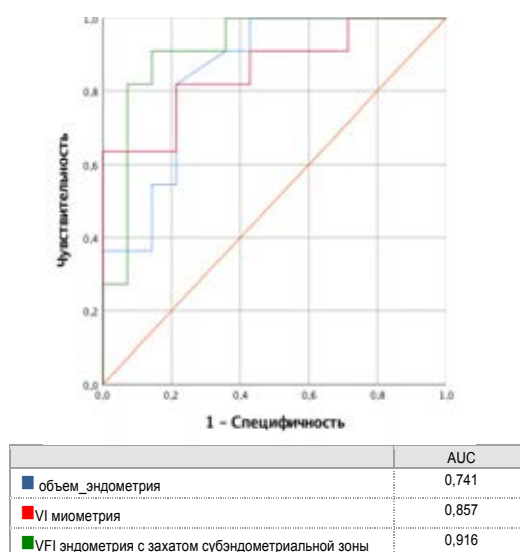


График 4 – ROC-анализ объема эндометрия, индекса васкуляризации (VI) в матке и васкуляризационно-потокowego индекса (VFI) в субэндометрии и эффективность ЭКО

Таким образом, использование 3D УЗИ с функцией энергетического доплера в день переноса эмбриона позволяет оценить кровоснабжение матки и косвенно судить о степени выраженности рецептивности эндометрия. Информация о показателях кровотока VI и VFI в матке и эндометрии с захватом субэндометриальной зоны, а так же объем эндометрия позволит избежать заведомо не результативных ПЭ при условии выявления их низких значений. Пациенткам со сниженным овариальным резервом с целью повышения эффективности ПЭ целесообразно проводить исследование кровоснабжения матки и при отклонениях от нормативных показателей необходимо рекомендовать проведение терапии, направленной на улучшение маточной перфузии на этапе прегравидарной подготовки.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Результаты проведенного исследования дают основу для дальнейшей разработки тактики ведения пациенток со сниженным овариальным резервом в протоколах ЭКО и ПЭ. Целесообразно продолжить исследование кровотоков в матке в день переноса эмбриона с предварительной подготовкой эндометрия у данных пациенток для повышения эффективности вспомогательных репродуктивных технологий.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток после ЭКО и ПЭ при сниженном овариальном резерве, особенно после 35 лет, в I триместре частота угрозы прерывания (65,2%) и потерь беременности (23,2%) выше, чем при нормальной функции яичников (42,8%; 14,4% соответственно).
2. При сниженном овариальном резерве независимо от возраста при уровне АМГ менее 0,41нг/мл осложнения течения I триместра беременности после ЭКО и ПЭ встречаются в 1,4-1,8 раза чаще, чем при значениях гормона от 0,5 до 1,1 нг/мл.
3. Изменения значений АОА с формированием в фолликулярной жидкости окислительного (менее 15 мкМ) или антиоксидантного стресса (более 30мкМ) сочетается с формированием эмбрионов низкого качества.

4. Определение объема эндометрия при 3Д УЗИ в день переноса эмбриона обладает большой значимостью для прогнозирования эффективности в циклах ЭКО и ПЭ (чувствительность 74,8% и специфичность 60,6%).
5. Для прогнозирования эффективности циклов ЭКО и ПЭ оценка параметров кровотока при 3Д УЗИ с энергетической доплерографией в день переноса эмбриона в эндометрии с захватом субэндометриальной зоны является достоверной техникой оценки кровоснабжения в сравнении с исследованием параметров кровотока эндометрия с определением его границ по базальному контуру.
6. Индекс васкуляризации (VI) матки и васкуляризационно-поточковый индекс (VFI) субэндометриальной зоны могут использоваться в качестве прогностических маркеров эффективности циклов ЭКО (86,4% и 69,4%; 90,4% и 79,4%, чувствительность и специфичность соответственно).

Практические рекомендации

Пациенткам со сниженным овариальным резервом, учитывая высокую вероятность осложнений во время беременности, рекомендована прегравидарная подготовка перед планируемым циклом ЭКО.

Использование протоколов в естественном цикле или с минимальной гормональной стимуляцией при сниженном овариальном резерве является предпочтительным учитывая более благоприятные исходы беременности.

Учитывая тенденцию к снижению АОА фолликулярной жидкости у пациенток со сниженным овариальным резервом с целью получения ооцитов и эмбрионов хорошего качества в циклах ВРТ рекомендовано дополнительное использование антиоксидантов.

Беря во внимание склонность к ухудшению кровоснабжения матки у пациенток со сниженным овариальным резервом рекомендовано переносить эмбрионы в криоконсервированном цикле с более тщательной подготовкой эндометрия к имплантации и проведение 3Д УЗИ с целью оценки параметров внутриматочного кровотока.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Рабаданова, А.К. Профилактика потери беременности после ЭКО у пациенток со сниженным овариальным резервом / А.К. Рабаданова, Р.И. Шалина, Н.А. Гугушвили, М.В. Денисенко // **Вопросы гинекологии, акушерства и пеританологии.** - 2017. - №6. - Т.6. - С. 36-43.
2. Рабаданова, А.К. Значение исследования биоптата яичника в оценке овариального резерва у пациенток с бесплодием / М.В. Денисенко, М.А. Курцер, Л.Ф. Курило, А.К. Рабаданова // **Российский вестник акушера-гинеколога.** - 2017. - № 5. - Т. 17. - С. 52-56.
3. Рабаданова, А.К. Антикоагулянтный статусу фолликулярной жидкости у пациенток с бесплодием, проходящих процедуру экстракорпорального оплодотворения, и его связь с качеством эмбриона / Е.В. Проскурнина, М.А. Шестакова, А.К. Рабаданова, М.М. Созарукова, Р.И. Шалина// **Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снигерева.** - 2017. - №3. - Т.4. - С. 159-163.
4. Рабаданова, А.К. Оценка антиоксидантного статуса фолликулярной жидкости у пациенток с бесплодием, проходящих процедуру экстракорпорального оплодотворения / М.А. Шестакова, Д.С. Морозова, А.К. Рабаданова, М.М. Созарукова // **Журнал акушерства и женских болезней.** - 2017. - Т.66. - № 5. - С. 168-169.
5. Рабаданова, А.К. Гемодинамика матки и состояние овариального резерва в оценке эффективности экстракорпорального оплодотворения / А.К. Рабаданова, Р.И. Шалина, Н.А. Гугушвили// **Вестник Российского государственного медицинского университета.** - 2018.- № 2.- С. 52-59.